



TITLE:

<平成29年度博士授与者 3>レーザーマイクロダイセクションを用いた血液塗抹標本からの白血病細胞の純化

AUTHOR(S):

松尾, 英将

CITATION:

松尾, 英将. <平成29年度博士授与者 3>レーザーマイクロダイセクションを用いた血液塗抹標本からの白血病細胞の純化. 京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻紀要: 健康科学: health science 2018, 13: 35-35

ISSUE DATE:

2018-03-31

URL:

<https://doi.org/10.14989/233178>

RIGHT:

レーザーマイクロダイセクションを用いた 血液塗抹標本からの白血病細胞の純化

松尾 英将

Purification of leukemic blast cells from blood smears using laser microdissection.

Hidemasa MATSUO

急性骨髄性白血病（AML）の治療においては、遺伝子異常に基づいたリスク層別化が行われてきた。これまでに患者の予後と相関する遺伝子異常（予後因子）が数多く同定されており、そのほとんどは診断時の末梢血や骨髓液から核酸を抽出し、遺伝子解析する手法が用いられてきた。しかし、検体中の白血病細胞（芽球）の割合が低い場合は、大多数を占める正常細胞の影響により正確な判定が行えない。また、骨髓線維症を合併するなどして十分な検体量が採取できない場合も多い。特にダウン症に合併したAML（AML-DS）では、上記の理由により予後因子に関する知見は乏しい。

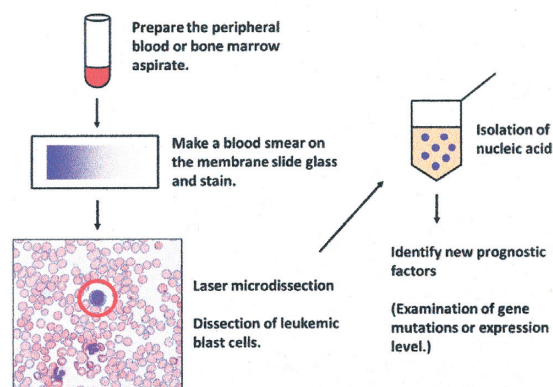
レーザーマイクロダイセクション（LMD）は顕微鏡観察下で組織の目的の領域を採取する装置である。LMDは主に病理検査の領域で、例えば特定の組織の遺伝子発現量を調べるなどの目的で用いられてきた。血液塗抹標本から血液細胞の形態学的特徴により単一の細胞を採取することは原理的には可能であるものの、技術的困難さからこれまでに行われていない。

そこで今回、LMDを用いて芽球を純化する系を確立するために、実験を行った。AML-DS患者から樹立した細胞株であるKPAM1および急性骨髄芽球性白血病細胞株であるKO52を1:9で混同し、疑似的に目的の細胞を10%の割合で含む溶液を作成し、フィルム付きスライドガラス上に塗抹した。次にメイグリュンワルド・ギムザ染色を行い、AML-DS細胞の特徴である大型で、好塩基性の細胞質を持ち、周囲にblebの形成を伴う細胞を約100細胞採取した。続いてnested PCRおよびサンガーシーケンスによりAML-DS細胞にみられるGATA1遺伝子変異を調べた。その結果、2bpの欠失に伴うフレームシフト変異が検出された。

今回野生型シグナルの重複がみられたものの、GATA1遺伝子はX染色体上にあり、KPAM1細胞株は女性患者由来であるためと考えられた。

さらに京都大学医の倫理委員会承認（G-516）を得て、GATA1遺伝子変異を持ち、一部がAML-DSを発症する一過性骨髄異常増殖症（TAM）患者の末梢血（芽球約20%）を採取した。前述のように塗抹標本作製し、顕微鏡観察下で形態学的特徴により芽球のみを約100細胞採取した。細胞形態の判定は2名の臨床検査技師で行った。変異解析の結果、GATA1遺伝子に17bpの重複に伴うフレームシフト変異が検出された。検体は男性患者由来であり野生型シグナルがほとんど検出されなかったことから、TAMの芽球が正確に採取できていたと考えられた。

以上より、LMDにより芽球を純化することで、感度の高い遺伝子変異解析が行える可能性が示された。今後は本手法を用いて、芽球割合が低い症例や十分な検体量がない場合でも、より正確な予後因子解析が行えると考えられる。



研究の概略（Int Hematol. 2017; 106: 55-59. より引用）